

Untersuchungen zur
hyaluronidasehemmenden Wirkung
eines Heparinoids mit
herabgesetzter antikoagulierender Wirkung

(Nachweis der Unabhängigkeit des
hyaluronidasehemmenden vom antikoagulierenden Effekt)

von

DIETER WILLMS

1960

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung eines Heparinoids
mit herabgesetzter antikoagulierender Wirkung

(Nachweis der Unabhängigkeit des hyaluronidasehemmenden vom
antikoagulierenden Effekt)

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dieter Willms

aus

Aurich /Ostfriesland

München 1960



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 8. 11. 1960

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Untersuchungen	7
Methodik	7
Versuchsreihen	8
Berechnung der prozentualen Hemmung	14
Statistische Auswertung	14
Diskussion	32
Zusammenfassung	33
Literaturverzeichnis	34

Problematik

In früheren Versuchen haben M a t h i e s ¹⁻⁷ und Mitarbeiter ⁸⁻¹² zeigen können, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung entsprechend wirksamer Substanzen über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes mit einer Ausschüttung von Katecholaminen zustandekommt. Dabei lösen die Katecholamine einen Faktor bzw. eine Kette von Faktoren aus, die letztlich den Effekt in-vivo-hyaluronidasehemmender Substanzen bedingen. Im einzelnen wurde am Beispiel der Salicylate, des Phenylbutazons, der Nebennierenrindensteroiden, des Chloräthylbenzmethoxazons und der Moorbäder nachgewiesen, daß deren hyaluronidasehemmende Wirkung bei adrenaletomierten Ratten ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Tieren erhalten ist. Diese Ergebnisse besagen zunächst, daß die Nebenniere für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung notwendig ist, was zu der Vermutung der Aktivierung der Nebennierenrinde als Vorbedingung für den hyaluronidasehemmenden Effekt geführt hat. Eine Aktivierung der Nebennierenrinde durch in-vivo-hyaluronidasehemmende Substanzen (Salicylate, Phenylbutazon, Cortison und Moorbäder) konnten D o m e n j o z ¹³ bzw. M a t h i e s ⁷ und J u n g ¹⁴ durch den Nachweis einer Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere aufzeigen. Dieser Depletionseffekt ist nach S a y e r s und S a y e r s ¹⁵ als Ausdruck der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde zu werten. In den genannten Untersuchungen von D o m e n j o z ¹³, M a t h i e s ⁷ und J u n g ¹⁴ konnte aber nachgewiesen werden, daß die Ascorbinsäureabnahme der Nebennierenrinde bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt, wobei nach den genannten Versuchen von M a t h i e s ¹⁻⁷ und Mitarbeitern ⁸⁻¹² bei hypophysektomierten Ratten der hyaluronidasehemmende Effekt der geprüften Substanzen erhalten bleibt. Daraus war der Schluß zu ziehen, daß eine Aktivierung der Nebennierenrinde durch die hyaluronidasehemmenden Stoffe zwar stattfindet, jedoch nicht für deren Effekt der

Hyaluronidasehemmung verantwortlich zu machen ist. Es blieb demnach anzunehmen, daß nicht die inkretorische Funktion der Nebennierenrinde, sondern die des Nebennierenmarkes die Voraussetzung für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung darstellt. Die Annahme konnte durch Untersuchungen von Mathies^{1,16,17}, Mathies und Jankowski³, Scheufele¹⁸ und Schmidt¹⁹ erhärtet werden, nach denen die Nebennierenmarkkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin sowohl bei intakten als auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung erzielen lassen. Daß der hyaluronidasehemmende Effekt sowohl des Adrenalins und Noradrenalins als auch des Natrium-Salicylates, Prednisolons, Phenylbutazons, Oestransulfats und der Moorbäder durch Ergotamintartrat als Adrenolyticum blockiert werden kann, bildet einen weiteren Hinweis auf eine über das Nebennierenmark laufende Wirkung der in-vivo-hyaluronidasehemmenden Stoffe (Mathies²⁰, Schmidt¹⁹, Poulantzas²¹, Vogel²², Glück²³, Lingnau²⁴). Die erwähnten Untersuchungen von Mathies¹⁷ und Scheufele¹⁸ machten deutlich, daß geringere Adrenalin- bzw. Noradrenalinmengen eher zu einer Hyaluronidasehemmung führen als höhere. Gleichzeitig konnte durch Registrierung der Pupillenweite festgestellt werden, daß die Hyaluronidasehemmung durch die Nebennierenmarkkatecholamine zeitlich nach der bekannten Wirkung auf die Pupillenweite auftritt. Diese Ergebnisse ließen vermuten, daß durch Freisetzung der Katecholamine ein weiterer Wirkungsfaktor ausgelöst wird, oder daß es sich um eine später in Erscheinung tretende Wirkung des Adrenalins bzw. Noradrenalins handelt, wie wir sie z.B. auch vom Blutzucker kennen. Um die zeitliche Abhängigkeit der Hyaluronidasehemmung von der Katecholaminausschüttung zu klären, wurden von Mathies²⁵ und Schlierf¹⁰ Versuche mit Adrenalindauerinfusionen bei adrenaletomierten Ratten vorgenommen, die gezeigt haben, daß auch bei einer Adrenalinzufuhr von 2 Stunden Dauer die Hyaluronidasehemmung erst eine gewisse Zeit nach Absetzen der Adrenalinzufuhr auftritt. Andererseits finden wir die Hyaluronidasehemmung aber auch, wenn während eines durch Dauerinfusionen künstlich erhöhten Adrenalinblutspiegelniveaus eine zusätzliche Blutspiegelerhöhung wieder auf das bereits erhöhte

Niveau absinkt. Nach diesen Versuchen ist weder ein bestimmter zeitlicher Abstand auf die primäre Katecholaminwirkung noch das Vorhandensein von Oxydationsprodukten des Adrenalins für das Auftreten der Hyaluronidasehemmung maßgebend. Vielmehr scheint ein Reaktionsablauf in Gang gesetzt zu werden, wenn ein Absinken des Adrenalinblutspiegels erfolgt.

Überlegungen von Mathies und Walcher²⁶, Maxein²⁷, und Ziwar²⁸ gingen nun dahin, ob eine körpereigene Substanz, deren hyaluronidasehemmende Wirkung bekannt ist, in dem genannten Modus des Wirkungsablaufs freigesetzt wird, die letztlich die Hyaluronidasehemmung bedingt. Die genannten Autoren konnten feststellen, daß Heparin (van Cane-
neghem, Marx und Spier²⁹, Gibian³⁰) bereits in sehr niedrigen intravenös zugeführten Dosen eine Hyaluronidasehemmung auslöst, die auch bei adrenalektomierten Ratten, wenn auch in etwas geringerem Ausmaß, nachweisbar und durch Protaminsulfat zu blockieren ist. Dosen von 1,5 Einheiten Heparin/100 g Ratte (Liquemin) führten noch zu einer signifikanten Hyaluronidasehemmung, obwohl sich in dieser Dosierung keine deutlichen Einflüsse auf die Blutgerinnung mehr zeigten²⁶. Nach Hardegge und Maass³¹ liegt die geringste Heparindosis, die an der Grenze der Beeinflussbarkeit der Blutgerinnung liegt, sogar zehnfach höher. Es ist bekannt, daß Heparin neben seinem blutgerinnungsverlängernden Effekt noch andere Wirkungen besitzt, die von seinem Einfluß auf die Blutgerinnung unabhängig sind.

Im Xylanpolyschwefelsäureester Sp 54 liegt ein Abkömmling des Thrombocid vor, dessen antikoagulierende Komponente nur etwa 1/20 - 1/40 derjenigen des Nativheparins beträgt (Marx³²). Mit diesem Körper war die Möglichkeit gegeben, durch Vergleich des hyaluronidasehemmenden Effektes gegenüber dem Heparin die Bindung dieses Effektes an die blutgerinnungsverlängernde Wirkung auszuschließen.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Es wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 150 - 250 g verwendet. Die Hyaluronidasehemmung wurde durch Anwendung eines Spreading-Testes gemessen. Um die Ruhe der Tiere während des Versuches zu gewährleisten, wurden die Versuche in Evipan-Narkose (30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier s.c.) durchgeführt. Nach Angaben von W i l - h e l m i ³³ besteht kein störender Einfluß des Evipans auf die Aktivität der Hyaluronidase.

Vor und zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion von Sp 54 wurde je eine intracutane Quaddel von 0,1 ccm einer Evansblau- (1% der 6%igen Stammlösung) und einer Farbstoff+Hyaluronidaselösung gesetzt, zu deren Herstellung eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin, Schering), enthaltend 150 IE, gelöst in 2 ccm des genannten Evansblau, benutzt wurde, so daß eine Quaddel von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase enthielt. Die Quaddeln wurden streng intracutan in die mit Pilca am schonendsten vollständig enthaarte Bauchhaut gesetzt.

Nach M a d i n a v e i t i a ³⁴ verläuft das Spreading der intracutanen Farbstoffquaddel zweiphasisch, und lediglich die innerhalb der ersten 10 Minuten ablaufende Reaktion ist sicher ein echter Effekt der Hyaluronidase. Die durch Hyaluronidase verstärkte aktive Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel beruht nach G i b b i a n ³⁰ auf dem Druck, den das Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt, zumindest im Verlaufe der ersten 10 Minuten. Im weiteren Verlauf dürften dann Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen. Die Diffusion des Farbstoffes wurde daher an der 10 Minuten nach der Quaddelinjektion erreichten Flächenausbreitung registriert, indem die Konturen auf einen durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen und planimetrisch ausgemessen wurden. Das Sp 54 wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf die jeweilige Dosis verdünnt und in die freipräparierte Femoralvene injiziert.

Den Tieren wurden in drei Versuchsreihen verschiedenen Dosen des

Sp 54 injiziert und die Hyaluronidasehemmung nach der oben beschriebenen Methodik zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion bestimmt. Entsprechend der mangelnden blutgerinnungsverlängernden Wirkung des Sp 54 ist eine Standardisierung nach IE nicht möglich. Andererseits war eine Umrechnung der im Handel befindlichen nach IE standardisierten Heparinpräparaten in Wirkstoffmengen dadurch erschwert, daß deren Aktivität unterschiedlich ist und anscheinend auch von Charge zu Charge schwanken kann. Im Durchschnitt können wir etwa 1 mg Heparin mit 100 IE gleichsetzen, was auch den für Liquemin gültigen Verhältnissen nach Angabe der Herstellerfirma entspricht. Bei van C a n e g h e m , M a r x und S p i e r ²⁹ finden wir eine Angabe, nach der 5000 Einheiten α -Heparin (Liquemin) 38,5 mg entspricht. Wir haben in unseren Versuchsreihen die Dosierungen von 0,015 mg, 0,15 mg und 0,5 mg Sp 54/100 g Tier gewählt.

Versuchsreihe 1 (a-c)

Es wurde den 150 - 250 g schweren Ratten 0,015 mg Sp 54/100 g Tier intravenös injiziert. Vor und 5, 10, 20, 40, 60 und 80 Minuten nach der Injektion wurden Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln nach der oben beschriebenen Methodik gesetzt und deren Flächeninhalt nach 10 Minuten bestimmt, wobei sich bei den 20 Minuten nach der Injektion von Sp 54 gesetzten Quaddeln die größte Hyaluronidasehemmung ergab. Ergebnisse siehe Tabellen 1-3 und 19-21.

Versuchsreihe 2 (a-c)

In dieser Versuchsreihe wurde die i.v. applizierte Dosis von Sp 54 auf 0,15 mg/100 g Tier erhöht. Die Ablesezeiten waren die gleichen. Das Maximum der Hyaluronidasehemmung lag hier bei 20 Minuten mit 43,9% gegenüber 37,2% bei der ersten Versuchsreihe. Ergebnisse siehe Tabellen 4-6 und 22-24.

Versuchsreihe 3 (a-c)

Hier wurde pro 100 g Tier 0,5mg Sp 54 intravenös verabreicht und wiederum nach 5, 10, 20, 40, 60 und 80 Minuten die Hyaluronidasehemmung im Vergleich zu den Leerquaddeln abgelesen. Das Maximum der Hemmung fand sich mit 45,1% und setzte bereits nach 5 Minuten ein. Ergebnisse siehe Tabellen 7-9 und 25-27.

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	5' nach	10' nach	vor	5' nach	10' nach
4	190 g	130 mm ²	125 mm ²	125 mm ²	232 mm ²	197 mm ²	207 mm ²
28	180 g	152 mm ²	150 mm ²	147 mm ²	238 mm ²	216 mm ²	203 mm ²
29	165 g	155 mm ²	143 mm ²	158 mm ²	239 mm ²	198 mm ²	215 mm ²
30	160 g	118 mm ²	125 mm ²	120 mm ²	225 mm ²	240 mm ²	245 mm ²
31	180 g	143 mm ²	150 mm ²	145 mm ²	238 mm ²	195 mm ²	205 mm ²
32	175 g	162 mm ²	168 mm ²	168 mm ²	270 mm ²	230 mm ²	235 mm ²
33	185 g	147 mm ²	132 mm ²	136 mm ²	221 mm ²	215 mm ²	208 mm ²

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1a)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	20' nach	40' nach	vor	20' nach	40' nach
76	150 g	109 mm ²	113 mm ²	119 mm ²	219 mm ²	185 mm ²	198 mm ²
88	155 g	114 mm ²	102 mm ²	118 mm ²	187 mm ²	161 mm ²	172 mm ²
89	170 g	137 mm ²	128 mm ²	142 mm ²	232 mm ²	180 mm ²	213 mm ²
90	180 g	118 mm ²	126 mm ²	124 mm ²	218 mm ²	183 mm ²	200 mm ²
91	185 g	112 mm ²	110 mm ²	95 mm ²	188 mm ²	166 mm ²	178 mm ²
92	175 g	120 mm ²	108 mm ²	124 mm ²	185 mm ²	162 mm ²	172 mm ²
93	160 g	118 mm ²	105 mm ²	114 mm ²	198 mm ²	164 mm ²	173 mm ²

T a b e l l e 2

(Versuchsreihe 1b)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	60'nach	80'nach	vor	60'nach	80'nach
74	150 g	122 mm ²	99 mm ²	98 mm ²	216 mm ²	191 mm ²	201 mm ²
75	155 g	110 mm ²	105 mm ²	94 mm ²	179 mm ²	161 mm ²	178 mm ²
77	160 g	112 mm ²	120 mm ²	116 mm ²	212 mm ²	202 mm ²	205 mm ²
78	170 g	125 mm ²	121 mm ²	118 mm ²	206 mm ²	193 mm ²	201 mm ²
79	160 g	111 mm ²	107 mm ²	125 mm ²	211 mm ²	193 mm ²	206 mm ²
80	155 g	103 mm ²	118 mm ²	105 mm ²	223 mm ²	205 mm ²	216 mm ²
81	165 g	137 mm ²	128 mm ²	110 mm ²	223 mm ²	213 mm ²	221 mm ²
82	180 g	122 mm ²	118 mm ²	127 mm ²	210 mm ²	208 mm ²	214 mm ²
83	165 g	104 mm ²	110 mm ²	106 mm ²	240 mm ²	212 mm ²	232 mm ²
84	160 g	125 mm ²	141 mm ²	126 mm ²	248 mm ²	219 mm ²	233 mm ²

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe 1c)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	5'nach	10'nach	vor	5'nach	10'nach
10	200 g	150 mm ²	150 mm ²	156 mm ²	250 mm ²	210 mm ²	206 mm ²
12	210 g	135 mm ²	138 mm ²	145 mm ²	210 mm ²	223 mm ²	228 mm ²
14	250 g	148 mm ²	153 mm ²	150 mm ²	245 mm ²	212 mm ²	195 mm ²
15	190 g	150 mm ²	158 mm ²	138 mm ²	238 mm ²	231 mm ²	208 mm ²
68	230 g	102 mm ²	94 mm ²	105 mm ²	202 mm ²	148 mm ²	176 mm ²
69	195 g	110 mm ²	104 mm ²	118 mm ²	186 mm ²	168 mm ²	153 mm ²
70	190 g	108 mm ²	100 mm ²	102 mm ²	205 mm ²	165 mm ²	170 mm ²
94	180 g	116 mm ²	122 mm ²	131 mm ²	230 mm ²	205 mm ²	206 mm ²

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 2a)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	20'nach	80'nach	vor	20'nach	80'nach
96	215 g	124 mm ²	114 mm ²	117 mm ²	216 mm ²	174 mm ²	212 mm ²
97	200 g	110 mm ²	98 mm ²	108 mm ²	204 mm ²	168 mm ²	185 mm ²
98	160 g	128 mm ²	108 mm ²	111 mm ²	204 mm ²	162 mm ²	198 mm ²
99	155 g	114 mm ²	128 mm ²	115 mm ²	210 mm ²	157 mm ²	190 mm ²
100	190 g	126 mm ²	115 mm ²	121 mm ²	209 mm ²	172 mm ²	198 mm ²
101	170 g	128 mm ²	130 mm ²	141 mm ²	215 mm ²	185 mm ²	206 mm ²

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe 2b)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	40'nach	60'nach	vor	40'nach	60'nach
21	165 g	140 mm ²	150 mm ²	152 mm ²	223 mm ²	208 mm ²	212 mm ²
22	180 g	148 mm ²	135 mm ²	133 mm ²	220 mm ²	205 mm ²	218 mm ²
23	155 g	140 mm ²	145 mm ²	140 mm ²	220 mm ²	200 mm ²	230 mm ²
24	185 g	135 mm ²	138 mm ²	129 mm ²	225 mm ²	197 mm ²	214 mm ²
26	190 g	140 mm ²	153 mm ²	150 mm ²	235 mm ²	220 mm ²	225 mm ²

T a b e l l e 6
(Versuchsreihe 2c)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	5'nach	10'nach	vor	5'nach	10'nach
5	180 g	155 mm ²	160 mm ²	140 mm ²	270 mm ²	230 mm ²	240 mm ²
6	190 g	160 mm ²	155 mm ²	160 mm ²	260 mm ²	210 mm ²	200 mm ²
7	195 g	150 mm ²	145 mm ²	160 mm ²	230 mm ²	190 mm ²	190 mm ²
8	195 g	150 mm ²	160 mm ²	165 mm ²	255 mm ²	185 mm ²	215 mm ²
37	160 g	145 mm ²	142 mm ²	135 mm ²	235 mm ²	210 mm ²	198 mm ²
38	195 g	132 mm ²	117 mm ²	110 mm ²	228 mm ²	192 mm ²	185 mm ²
39	160 g	118 mm ²	122 mm ²	120 mm ²	218 mm ²	168 mm ²	185 mm ²
40	165 g	125 mm ²	122 mm ²	110 mm ²	190 mm ²	155 mm ²	172 mm ²
41	160 g	116 mm ²	110 mm ²	118 mm ²	192 mm ²	155 mm ²	161 mm ²
42	170 g	115 mm ²	123 mm ²	125 mm ²	192 mm ²	162 mm ²	164 mm ²

T a b e l l e 7
(Versuchsreihe 3a)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	20'nach	40'nach	vor	20'nach	40'nach
43	170 g	120 mm ²	125 mm ²	115 mm ²	178 mm ²	155 mm ²	158 mm ²
44	185 g	125 mm ²	115 mm ²	130 mm ²	198 mm ²	147 mm ²	162 mm ²
45	165 g	130 mm ²	122 mm ²	124 mm ²	218 mm ²	182 mm ²	198 mm ²
46	185 g	130 mm ²	126 mm ²	117 mm ²	215 mm ²	178 mm ²	194 mm ²
48	190 g	117 mm ²	125 mm ²	108 mm ²	182 mm ²	157 mm ²	161 mm ²
49	180 g	115 mm ²	122 mm ²	110 mm ²	220 mm ²	178 mm ²	189 mm ²
50	160 g	105 mm ²	110 mm ²	95 mm ²	185 mm ²	158 mm ²	182 mm ²
62	165 g	110 mm ²	106 mm ²	117 mm ²	192 mm ²	162 mm ²	186 mm ²
63	185 g	126 mm ²	118 mm ²	134 mm ²	213 mm ²	172 mm ²	189 mm ²
64	155 g	115 mm ²	100 mm ²	98 mm ²	198 mm ²	166 mm ²	180 mm ²

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe 3b)

Tier Nr.	Tier- Gewicht	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
		vor	60'nach	80'nach	vor	60'nach	80'nach
51	170 g	112 mm ²	116 mm ²	108 mm ²	196 mm ²	192 mm ²	188 mm ²
52	175 g	118 mm ²	108 mm ²	113 mm ²	206 mm ²	192 mm ²	196 mm ²
53	185 g	118 mm ²	132 mm ²	120 mm ²	216 mm ²	207 mm ²	193 mm ²
56	165 g	132 mm ²	135 mm ²	125 mm ²	225 mm ²	208 mm ²	210 mm ²
57	190 g	130 mm ²	125 mm ²	108 mm ²	214 mm ²	208 mm ²	198 mm ²
58	195 g	128 mm ²	126 mm ²	116 mm ²	208 mm ²	194 mm ²	206 mm ²
59	160 g	128 mm ²	112 mm ²	112 mm ²	214 mm ²	198 mm ²	208 mm ²
60	170 g	108 mm ²	106 mm ²	118 mm ²	204 mm ²	190 mm ²	188 mm ²
61	195 g	102 mm ²	93 mm ²	112 mm ²	212 mm ²	188 mm ²	200 mm ²

T a b e l l e 9
(Versuchsreihe 3c)

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hyaluronidasehemmung wurde die Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor Einwirkung der Versuchssubstanz einer 0%igen Hemmung gleichgesetzt. Die Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddel vor dem Versuch entspricht einer 100%igen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität, da theoretisch die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidaseaktivität die gleiche Ausbreitung aufweisen würde. Unter Berücksichtigung dieser beiden Festpunkte wurde aus dem Verhältnis der Flächenausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu verschiedenen Zeiten nach Applikation der Versuchssubstanz die Hemmung nach der Formel

$$\frac{FH \text{ vor} - FH \text{ nach} \times 100}{FH \text{ vor} - F \text{ vor}} = \%$$

berechnet. Die Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeimengung nach Einwirkung der untersuchten Substanz diente lediglich der statistischen Berechnung eines etwaigen Einflusses auf die Ausbreitung des Farbstoffes allein.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Bei der statistischen Auswertung gingen wir von linearen statistischen Modellen aus, denen die Annahme zugrunde lag, daß die Änderungen, die eine Quaddel von einem Zeitpunkt zum anderen erfährt, im wesentlichen von den Versuchstieren unabhängig ist. Die Erfahrung bei der statistischen Auswertung anderer Versuche mit entsprechender Fragestellung hat gezeigt, daß dieses Modell dem vorliegenden realen Sachverhalt in ausreichender Näherung entspricht.

Bei der statistischen Auswertung war zu prüfen, ob sich die Größe der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel während des Versuchsablaufs gegenüber dem Wert vor Anwendung des Präparates wesentlich ändert. Andererseits war zu prüfen, ob die reine Farbstoffquaddel während des gesamten Versuchsablaufes konstant bleibt bzw. ob deren Änderung als rein zufällig angesehen werden kann. Nur wenn dieses der Fall ist, kann eine Änderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel als ein spezifischer Hyaluronidase-

Effekt gedeutet werden.

Im einzelnen wurden, auf Grund der linearen statistischen Modelle, für jeden der beiden Quaddel-Typen Varianz-Analysen durchgeführt. Diese Varianz-Analysen finden sich in den Tabellen 10-18. Es bedeutet in diesen Tabellen jeweils n die Zahl der Freiheitsgrade, SAQ das Summen-Abstands-Quadrat und MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat der zugehörigen Varianz-Komponente. Auf die Bedeutung der beiden Spalten $F_{emp.}$ und p kommen wir weiter unten zu sprechen.

Die in den Varianz-Analysen auftretende Rest-Varianz ist ein Maß für die Abweichung zwischen den tatsächlichen Meßergebnissen und dem zugrunde gelegten linearen statistischen Modell. Sie stellt die beste, aus den Versuchsergebnissen zu gewinnende Schätzung für den Versuchsfehler dar. Dementsprechend legten wir sämtlichen statistischen Prüfungen diese Rest-Varianz als Versuchsfehler zugrunde. In den Varianz-Analysen ist für jede Varianz-Komponente der Varianz-Quotient $F_{emp.}$ angegeben, den diese Varianz-Komponente mit der Rest-Varianz bildet. p ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, die dem jeweiligen Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung zukommt. Eine statistisch gesicherte Änderung eines Quaddel-Typus von einem Zeitpunkt zum anderen innerhalb einer Teil-Versuchsreihe liegt nur dann vor, wenn der zur Varianz-Komponente zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{emp.}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die höchstens 5% beträgt. Hiernach vermittelt die Varianz-Analyse die folgenden Ergebnisse:

Farbstoff-Quaddel

Bei keiner Versuchsreihe besitzt der zur Varianz-Komponente zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{emp.}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die kleiner als 5% ist. Es ergeben sich somit statistisch keinerlei Anhaltspunkte dafür, daß die Änderungen der Farbstoff-Quaddel anders als zufällig bedingt sind. Es erscheint somit gerechtfertigt, statistisch gesicherte Änderungen der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel auf spezifische Hyaluronidase-Effekte zurückzuführen.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Bei sämtlichen Versuchsreihen besitzt der zur Varianz-Komponente

zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{emp.}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die nicht größer als 1%, bei einigen Versuchsserien sogar nicht größer als 0,1% ist. Es darf damit als statistisch gesichert angesehen werden, daß die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel während des Versuchsablaufes statistisch gesicherte Änderungen erfährt. Ob es sich bei diesen Änderungen um eine Verkleinerung oder um eine Vergrößerung gegenüber dem Ausgangswert handelt, wird weiter unten untersucht werden.

In den Tabellen 19-27 ist für beide Quaddel-Typen und für jeden Zeitpunkt der Mittelwert $\bar{x}$ aus allen an den Versuchstieren vorgenommenen Messungen angegeben. In der Spalte s^2 findet sich die Varianz zwischen diesen Meßwerten. Sie ist ein Ausdruck für die Homogenität in der Reaktion der Versuchstiere. Da diese Varianzen innerhalb der gleichen Teil-Versuchsserien nur geringe Abweichungen zeigen, bedeutet dieses, daß die Versuchstiere auf die Medikation sehr einheitlich reagieren.

Die Varianz-Analysen liefern nur eine generelle Aussage darüber, ob überhaupt Änderungen in der Quaddel-Größe im zeitlichen Ablauf des Versuches auftreten. Zu welchem Zeitpunkt speziell sich die Größe der Quaddeln gegenüber ihrem Ausgangswert statistisch wesentlich geändert haben, kann aus den Varianz-Analysen nicht direkt ermittelt werden. Das lineare Modell, das wir der statistischen Auswertung zugrunde legten, ging von der Annahme aus, daß die Änderungen der Quaddeln von einem Zeitpunkt zum anderen eine von den Versuchstieren unabhängige Größe ist. Der beste statistische Schätzwert für diese Größe ist die Differenz zwischen den zu den betreffenden Zeitpunkten gehörigen Mittelwerten. In der Spalte $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ steht für jeden Zeitpunkt die Differenz des zugehörigen Mittelwertes zu dem Mittelwert der Quaddelgrößen vor Beginn des Versuches. Ist diese Differenz negativ, so liegt eine Verkleinerung der Quaddeln gegenüber ihrem Ausgangswert vor; ist sie positiv, so liegt eine Vergrößerung vor. Für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel war zu prüfen, ob diese Mittelwertsdifferenzen statistisch wesentlich von 0 abweichen. Da sie durchweg negativ sind, läuft dieses darauf hinaus zu prüfen, zu welchen Zeitpunkten eine gesicherte Hyaluronidasehemmung vorliegt. Wir verwendeten hierzu den Duncan-Test, der zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertsdifferenzen im Anschluß an eine Varianz-Analyse

entwickelt wurde. Sofern dieser Test für die Behauptung, daß die betreffende Mittelwertsdifferenz wesentlich von 0 verschieden sei, eine Irrtumswahrscheinlichkeit lieferte, die kleiner als 5% ist, wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit in der Spalte "Sicherung" angegeben. Nur in diesen Fällen kann die Behauptung, daß eine Hyaluronidaschemmung vorliege, als statistisch gesichert gelten (5% schwache Sicherung; 1% ausreichende Sicherung).

Schließlich enthalten die Tabellen 19-27 in der Spalte "Hyaluronidaschemmung" die in üblicher Weise errechnete prozentuale Hyaluronidaschemmung.

Zum Zeitpunkt 5' p.i. weist die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel bei der Dosis 1,5 E eine Abnahme um 24 mm^2 gegenüber ihrem Ausgangswert, bei der Dosis 50 E eine Abnahme um 41 mm^2 auf. Obschon es sich hier um den größten Unterschied in der Hyaluronidaschemmung zweier verschiedener Dosierungen handelt, war es nicht möglich, diesen Unterschied statistisch zu sichern. Die Ursache hierfür liegt darin, daß die Bestimmung der Hyaluronidaschemmung bei den beiden Dosierungen an verschiedenen Gruppen und Versuchstieren vorgenommen wurden. Dieses macht es praktisch unmöglich, einen präzisen statistischen Vergleich mit so kleinen Stichproben-Umfängen durchzuführen. Es darf jedoch angenommen werden, daß sich Unterschiede in den Dosierungen hätten statistisch feststellen lassen, wenn es möglich gewesen wäre, verschiedene Dosierungen an den gleichen Versuchstieren zu applizieren.

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	4.307	718	25,64	0,1%
Zwischen Zeiten	2	14	7	-	-
Rest-Varianz	12	338	28		
Gesamt-Varianz	20	4.659	233		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	3.042	507	3,13	5,0%
Zwischen Zeiten	2	2.444	1.222	7,54	1,0%
Rest-Varianz	12	1.945	162		
Gesamt-Varianz	20	7.431	371		

T a b e l l e 10
(Versuchsreihe 1a)

Farbstoff-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	1.722	287	6,10	1,0%
Zwischen Zeiten	2	157	78	1,66	-
Rest-Varianz	12	568	47		
Gesamt-Varianz	20	2.447	122		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	4.111	685	20,76	0,1%
Zwischen Zeiten	2	3.654	1.827	55,36	0,1%
Rest-Varianz	12	402	33		
Gesamt-Varianz	20	8.167	408		

T a b e l l e 11
(Versuchsreihe 1b)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	2.302	256	3,46	2,0%
Zwischen Zeiten	2	130	65	-	-
Rest-Varianz	18	1.339	74		
Gesamt-Varianz	29	3.771	130		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	7.705	856	37,22	0,1%
Zwischen Zeiten	2	1.502	751	32,65	0,1%
Rest-Varianz	18	407	23		
Gesamt-Varianz	29	9.614	331		

T a b e l l e 12
(Versuchsreihe 1c)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	7	9.984	1.426	36,56	0,1%
Zwischen Zeiten	2	56	28	-	-
Rest-Varianz	14	548	39		
Gesamt-Varianz	23	10.588	460		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	7	11.854	1.690	8,94	0,1%
Zwischen Zeiten	2	3.841	1.920	10,15	0,5%
Rest-Varianz	14	2.657	189		
Gesamt-Varianz	23	18.332	797		

T a b e l l e 13
(Versuchsreihe 2a)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	1.189	238	4,49	5,0%
Zwischen Zeiten	2	114	57	1,07	-
Rest-Varianz	10	535	53		
Gesamt-Varianz	17	1.838	108		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	812	162	5,58	2,0%
Zwischen Zeiten	2	5.089	2.544	87,72	0,1%
Rest-Varianz	10	295	29		
Gesamt-Varianz	17	6.196	364		

T a b e l l e 14
(Versuchsreihe 2b)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	407	102	2,49	-
Zwischen Zeiten	2	41	20	-	
Rest-Varianz	8	326	41		
Gesamt-Varianz	14	774	55		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	398	99	2,61	-
Zwischen Zeiten	2	932	466	12,26	1,0%
Rest-Varianz	8	303	38		
Gesamt-Varianz	14	1.633	116		

T a b e l l e 15
(Versuchsreihe 2c)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	8.880	987	16,18	0,1%
Zwischen Zeiten	2	26	13	-	
Rest-Varianz	18	1.089	61		
Gesamt-Varianz	29	9.995	345		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	17.426	1.936	24,82	0,1%
Zwischen Zeiten	2	10.099	5.049	64,73	0,1%
Rest-Varianz	18	1.402	78		
Gesamt-Varianz	29	28.927	998		

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 3a)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	1.919	213	6,87	0,1%
Zwischen Zeiten	2	88	44	1,42	-
Rest-Varianz	18	891	31		
Gesamt-Varianz	29	2.898	100		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	4.642	516	13,58	0,1%
Zwischen Zeiten	2	5.969	2.984	78,52	0,1%
Rest-Varianz	18	692	38		
Gesamt-Varianz	29	11.303	390		

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 3b)

Farbstoff-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	8	1.737	217	3,74	2,0%
Zwischen Zeiten	2	108	54	-	
Rest-Varianz	16	925	58		
Gesamt-Varianz	26	2.770	106		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel					
Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	8	1.173	147	5,25	1,0%
Zwischen Zeiten	2	951	476	16,96	0,1%
Rest-Varianz	16	442	28		
Gesamt-Varianz	26	2.566	99		

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 3c)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	7	144	232			
FH_v	7	237	253			
$F_{5'}$	7	142	247	- 2		
$FH_{5'}$	7	213	306	- 24	25,9%	1,0%
$F_{10'}$	7	143	295	- 1		
$FH_{10'}$	7	217	272	- 20	21,9%	1,0%

T a b e l l e 19

(Versuchsreihe 1a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	7	118	83			
FH_v	7	204	358			
$F_{20'}$	7	113	102	- 5		
$FH_{20'}$	7	171	112	- 33	37,2%	1,0%
$F_{40'}$	7	119	196	+ 1		
$FH_{40'}$	7	186	282	- 18	19,9%	1,0%

T a b e l l e 20

(Versuchsreihe 1b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	10	117	117			
FH_v	10	217	260			
$F_{60'}$	10	117	149	0		
$FH_{60'}$	10	200	274	- 17	16,9%	1,0%
$F_{80'}$	10	112	139	- 5		
$FH_{80'}$	10	211	267	- 6	6,0%	5,0%

T a b e l l e 21
(Versuchsreihe 1c)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	8	127	422			
FH_v	8	221	535			
$F_{5'}$	8	127	665	0		
$FH_{5'}$	8	195	933	- 26	29,2%	1,0%
$F_{10'}$	8	131	416	+ 4		
$FH_{10'}$	8	193	601	- 28	32,0%	1,0%

T a b e l l e 22
(Versuchsreihe 2a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	6	121	59			
FH_v	6	209	27			
$F_{20'}$	6	115	146	- 6		
$FH_{20'}$	6	169	96	- 40	43,9%	1,0%
$F_{80'}$	6	119	139	- 2		
$FH_{80'}$	6	198	99	- 11	12,6%	1,0%

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 2b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	5	141	22			
FH_v	5	225	38			
$F_{40'}$	5	144	59	+ 3		
$FH_{40'}$	5	206	79	- 19	22,4%	1,0%
$F_{60'}$	5	141	103	0		
$FH_{60'}$	5	220	57	- 5	5,8%	-

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 2c)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	10	137	301			
FH_v	10	227	855			
$F_{5'}$	10	136	358	- 1		
$FH_{5'}$	10	186	662	- 41	45,1%	1,0%
$F_{10'}$	10	134	448	- 3		
$FH_{10'}$	10	191	574	- 36	39,3%	1,0%

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 3a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	10	119	72			
FH_v	10	200	247			
$F_{20'}$	10	117	80	- 2		
$FH_{20'}$	10	165	136	- 35	41,4%	1,0%
$F_{40'}$	10	115	160	- 4		
$FH_{40'}$	10	180	210	- 20	24,1%	1,0%

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 3b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
F_v	9	120	114			
FH_v	9	211	68			
$F_{60'}$	9	117	187	- 3		
$FH_{60'}$	9	197	66	- 14	14,0%	1,0%
$F_{80'}$	9	115	32	- 5		
$FH_{80'}$	9	199	67	- 12	12,8%	1,0%

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 3c)

Diskussion

Die Ergebnisse der vorgelegten Arbeit zeigen, daß der Xylanpolyschwefelsäureester Sp 54 in gleicher Dosierung gegenüber Heparin (Liquemin) annähernd das gleiche Ausmaß der Hyaluronidasehemmung ergibt, obwohl bereits 0,015 mg/100 g Heparin (1,5 Einheiten Liquemin) keine gerinnungsverlängernde Eigenschaft mehr zeigten (M a t h i e s und W a l c h e r ²⁶, M a x e i n ²⁷) und darüber hinaus das Sp 54 eine 20-40fache geringere antikoagulierende Komponente gegenüber dem Heparin aufweist (M a r x ³²). Damit ist sicher gestellt, daß der hyaluronidasehemmende Effekt des Heparins bzw. heparinähnlicher Stoffe wie Sp 54 nicht an deren antikoagulierende Komponente gebunden ist. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, daß eine Erhöhung der Dosis von Sp 54, gleichwie auch bei Heparin (Z i w a r i ²⁸) um das 10- bzw. 33,3fache keine wesentliche Veränderung des Ausmaßes der Hyaluronidasehemmung mit sich bringt. Es ist daher auch von einer Dosiserhöhung kein besserer Effekt zu erwarten.

Auf der anderen Seite bestätigen die Ergebnisse die schon beim Heparin gefundene Tatsache, daß äußerst geringe Mengen notwendig sind, um den hyaluronidasehemmenden Effekt in voller Ausprägung zu erhalten. Wenn wir demnach eine Mitwirkung des Heparins oder zumindest heparinähnlicher körpereigener Substanzen im Anschluß an die Katecholaminwirkung annehmen wollen, so liegt ein derartiger Wirkungsablauf durchaus im Bereich der Möglichkeiten. Es wurde bereits erwähnt (M a x e i n ²⁷), daß der hyaluronidasehemmende Effekt des Heparins durch Protaminsulfat zu blockieren ist. Inzwischen haben Untersuchungen von W e i s s ³⁵, M a x e i n ²⁷, V o g e l ²², P o u l a n t z a s ²¹, G l ü c k ²³ und M a t h i e s ^{36,37} ergeben, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin, Natriumsalicylat, Phenylbutazon, Prednisolon, Oestron-sulfat und Moorbädern durch vorherige Protaminsulfatinjektion bei der Ratte bzw. beim Menschen aufgehoben werden kann, wobei sogar eine geringe enthemmende Wirkung zutage trat. Diese Versuchsergebnisse machen die Mitwirkung des Heparins oder heparinähnlicher Substanzen im Wirkungsablauf in-vivo-hyaluronidasehemmende Stoffe noch wahrscheinlicher.

Zusammenfassung

Mit Hilfe des Xylanpolyschwefelsäureesters Sp 54, dessen antikoagulierende Wirkung $1/20 - 1/40$ gegenüber der des Heparins beträgt, wurde gezeigt, daß der hyaluronidasehemmende Effekt dieses Stoffes in der gleichen Größenordnung wie der des Nativheparins liegt. Die Hyaluronidasehemmung sowohl des Heparins wie die des Sp 54 ist mit sehr geringen Mengen von $0,015 \text{ mg}/100 \text{ g}$ Tier zu erreichen. Eine Steigerung der Dosis läßt keine wesentlich stärkeren Effekte erzielen. Es wird damit gezeigt, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Heparins oder heparinähnlicher Substanzen unabhängig von deren antikoagulierender Komponente ist. Unter Hinweis auf bereits vorliegende Ergebnisse anderer Autoren wird die Mitwirkung des Heparins im Wirkungsmechanismus in-vivo-hyaluronidasehemmende chemischer Substanzen diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Med. Klin. 52 (1957), 1676
- 2) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8 (1958), 233
- 3) Mathies, H. und Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 4) Mathies, H.: im Manuskript
- 5) Mathies, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131 (1959), 118
- 6) Mathies, H. und v. Werther, G.: Arzneimittelforsch. 9 (1959), 576
- 7) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18 (1959), 308
- 8) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 9) Hartmann, M.: Diss. München 1959
- 10) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 11) Gerson, U.: Diss. München in Vorbereitung
- 12) Rösch, U.: Diss. München 1959
- 13) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharm. 225 (1955), 14
- 14) Jung, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 15) Sayers, G. und Sayers, M.: Endocrinology (Springfield) 40 (1947), 256
- 16) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12 (1958), I/87
- 17) Mathies, H.: Arch. int. Pharmacodyn. et Thér. im Druck
- 18) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 19) Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 20) Mathies, H. u. Mitarb.: Medicina exp. 1 (1959), 64
- 21) Poulantzas, J.: Diss. München 1958
- 22) Vogel, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 23) Glück, A.: Diss. München 1959
- 24) Lingnau, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 25) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 26) Mathies, H. u. Walcher, A.: in Vorbereitung
- 27) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 28) Ziware, P.: Diss. München in Vorbereitung
- 29) van Caneghem, R., Marx, R. u. Spier, H.W.: Arch. exp. Path. Pharm.
227 (1955), 149
- 30) Gibian, H.: Erg. d. Enzymforsch. 13 (1954), 1
- 31) Hardegg, W. u. Maass, W.: Klin. Wschr. 33 (1955), 811
- 32) Marx, R.: persönliche Mitteilung

- 33) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (13)
- 34) Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 32 (1938), 1806
- 35) Weiss, G.: Diss. München in Vorbereitung
- 36) Mathies, H.: VI. Int. Kongreß f. universelle Moorforschung,
Spa /Belgien 5. bis 9.6.1958
- 37) Mathies, H.: Int. Kongr. f. Balneol. u. Klimatol. Lacco Ameno/Italien
4. bis 8.10.1958

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates danken.

Herrn Dr. H. Mathies bin ich für die Anregungen zu dieser Arbeit und für ihre Gestaltung zu besonderem Dank verbunden.

Außerdem darf ich Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich für die Beratung in der statistischen Auswertung, der Firma Benend K.G. für die Bereitstellung des Präparates Sp 54 und der Firma Schering A.G. für die Überlassung des eigens für Laborzwecke standardisierten Hyaluronidasepräparates (Kinetin) danken.

Lebenslauf

Ich wurde am 12.4.1934 in Extum Kreis Aurich/Ostfriesland geboren und besuchte dort von 1940 bis 1944 die Volksschule. 1944 trat ich in das humanistische Gymnasium Ulricianum zu Aurich ein und bestand dort im März 1954 die Reifeprüfung.

Im Sommersemester 1954 begann ich das Jurastudium an der Universität Tübingen, wechselte aber im folgenden Wintersemester zum Medizinstudium. Vom Sommersemester 1955 an setzte ich das Studium an der Universität Göttingen bis zum Abschluß der ärztlichen Vorprüfung im Februar 1957 fort. Nach zwei Semestern an der Universität Innsbruck war ich zwei Semester in München, wo ich neben dem Studium vorwiegend mit der Ausarbeitung meiner Doktorarbeit beschäftigt war. Das Sommersemester 1959 verbrachte ich in Freiburg und kehrte zum 11. Fachsemester nach München zurück, wo ich im Juli 1960 das Medizinstudium mit dem Staatsexamen abschloß.

